

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické technologie

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Tekuté pediatrické přípravky 1. Sotalol hydrochlorid.

Liquid paediatric preparations 1. Sotalol hydrochloride.

2013

Tomáš Kříž

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

.....

Poděkování:

Rád bych touto cestou poděkoval Doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D. za odborné vedení při psaní diplomové práce, za věcné připomínky ke stylizaci, trpělivost a za čas, který mi tímto způsobem věnovala. Dále bych rád poděkoval i PharmDr. Sylvě Klovřové, externí školitelce, za metodickou pomoc v praktické části diplomové práce.

Obsah

1	Abstrakt.....	6
2	Abstract.....	7
3	Zadání	8
4	Úvod	9
5	Teoretická část.....	10
5.1	Pediatrické přípravky	10
5.1.1	Specifika dětské populace	10
5.1.2	Lékové formy pro pediatrii.....	12
5.2	Perorální tekutiny (Liquida Peroralia).....	13
5.2.1	Účinnost protimikrobních konzervačních látek	15
5.2.2	Mikrobiální stabilita	16
5.2.3	Chemická stabilita	16
5.2.4	Fyzikální stabilita	17
5.2.5	Požadavky na perorální tekutiny	17
5.2.5.1	Stejnoměrnost dávkových jednotek	17
5.2.5.2	Obsahová stejnoměrnost.....	18
5.2.5.3	Hmotnostní stejnoměrnost.....	18
5.2.5.4	Dávka a dávková stejnoměrnost perorálních kapek.....	18
5.2.5.5	Hmotnostní stejnoměrnost jednotlivých dávek ve vícedávkových obalech	19
5.3	Pomocné látky pro pediatrické perorální tekutiny	19
5.3.1.1	Vehikula	19
5.3.1.2	Látky zvyšující viskozitu.....	21
5.3.1.3	Protimikrobní konzervační látky	21
5.3.1.4	Korigencia chuti.....	22
5.3.1.5	Tlumivé přísady	22
5.4	Sotalol hydrochlorid	23

5.4.1	Farmakokinetika sotalolu	24
5.4.2	Dávkování sotalolu.....	25
5.4.3	Vlastnosti sotalolu	25
5.4.4	Stabilita sotalolu.....	25
5.4.5	Pediatrické formulace se sotalolem.....	26
6	Experimentální část	27
6.1	Použité suroviny.....	27
6.2	Použité přístroje	27
6.3	Použité metody.....	28
6.3.1	Příprava vzorků.....	28
6.3.2	Hodnocení vlastností a stability přípravků	31
6.3.2.1	Měření pH.....	31
6.3.2.2	Měření hustoty	32
6.3.2.3	Měření osmolality	32
6.3.2.4	Potenciometrická titrace na chloridy.....	33
6.3.2.5	Měření indexu lomu	34
7	Výsledky a diskuze.....	35
7.1	Preformulační studie	35
7.1.1	Zkoušené roztoky.....	35
7.1.2	Zhodnocení výsledků měření hustoty a osmolality.....	40
7.2	Stabilitní studie	40
7.3	Stanovení obsahu	47
7.4	Index lomu	47
8	Závěry	49
9	Přílohy.....	50
10	Použitá literatura.....	51

1 Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutické technologie

Školitel: Doc. PharmDr. Zdenka Šklubalová, Ph.D.

Posluchač: Tomáš Kříž

Název diplomové práce: Tekuté pediatrické přípravky 1. Sotalol hydrochlorid

Cílem této práce bylo navrhnout vhodnou formulaci pediatrického perorálního roztoku se sotalol hydrochloridem 5 mg/ml s využitím minimálního množství pomocných látek. Na základě preformulační studie bylo připraveno osm vzorků roztoků sotalol hydrochloridu s kyselinou citronovou a dodekahydrátem hydrogenfosforečnanu sodného pro úpravu pH, sorbátem draselným pro zajištění mikrobiální stability, prostým sirupem nebo sodnou solí sacharinu pro modulaci chuti. U vzorků byla změřena hustota a osmolalita. Vzorky byly skladovány při 2-8 °C a 20-25 °C a po dobu 90 dnů bylo měřeno jejich pH. Všechny studované vzorky měly stabilní hodnoty pH při obou teplotách, kromě vodného roztoku sotalol hydrochloridu. Byly vybrány vhodné formulace pro stabilitní studii se stanovením obsahu sotalolu hydrochloridu a sorbátu draselného metodou HPLC.

2 Abstract

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of:	Pharmaceutical Technology
Consultant:	Doc. PharmDr. Zdenka Šklubalová, Ph.D.
Student:	Tomáš Kříž
Title of Thesis:	Liquid paediatric preparations 1. Sotalol hydrochloride

The aim of this work was to formulate suitable paediatric oral solution with sotalol hydrochloride 5 mg/ml using a minimum amount of excipients. After the preformulation study, eight aqueous solutions of sotalol hydrochloride were compounded using citric acid and dibasis sodium phosphate dodecahydrate to stabilize pH value, potassium sorbate as a preservative, and simple sucrose syrup and/or sodium saccharin, respectively, as sweeteners. Density and osmolality of the formulations were estimated. The solutions were stored at two different temperatures of 2-8 °C and/or 2-8 °C, respectively, and the pH values were measured during 90 days. All studied formulations showed stable pH values at both temperatures of storage, except for an aqueous sotalol hydrochloride solution. Some of the formulations were proposed for validated stability study with a determination of the concentration of sotalol hydrochloride and potassium sorbate using HPLC.

3 Zadání

Cílem teoretické části bylo podat přehled o požadavcích na tekuté perorální pediatrické přípravky, jejich složení a vhodných pomocných látkách. Vzhledem k zaměření práce shrnuje teoretická část také informace o vlastnostech a dostupných formulacích sotalol hydrochloridu (SOT).

Cílem praktické části bylo navrhnout vhodnou formulaci pediatrického perorálního roztoku se SOT v koncentraci 5 mg/ml a ověřit jeho stabilitu pomocí metod dostupných v podmínkách nemocniční lékárenské praxe. Dílčí cíle byly následující:

- 1) Na základě dostupných informací o formulacích se SOT vybrat v preformulační studii vhodné vehikulum pro úpravu pH a další pomocné látky (protimikrobní látku, sladidlo) ve vhodné koncentraci pro pediatrické použití s cílem zajistit tříměsíční fyzikálně-chemickou a mikrobiální stabilitu přípravku.
- 2) Vybrat vhodný obal pro skladování a dávkování v dlouhodobé terapii dětem od novorozeneckého věku.
- 3) Stanovit vlastnosti jednotlivých formulací, jako jsou hustota, osmolalita a pH.
- 4) Vybrat a ověřit analytické metody pro rutinní kontrolu v nemocniční lékárně.
- 5) Vybrat vhodné formulace pro stabilitní studii se stanovením obsahu sotalol hydrochloridu a vybrané protimikrobní látky pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC)

4 Úvod

Magistraliter příprava hraje významnou roli obzvláště v pediatrii vzhledem k nedostupným hromadně vyráběným přípravkům pro děti. Dle úplného znění Zákona o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů č. 378/2007 Sb. lze léčivé přípravky připravovat v lékárnách pouze na základě lékařského předpisu pro jednotlivého pacienta, v souladu s Českým lékopisem, nebo na základě technologického předpisu zpracovaného osobou oprávněnou k přípravě, pokud pro připravovaný léčivý přípravek není uveden příslušný článek v Českém lékopisu. Pro tuto přípravu lze použít pouze léčivé látky a pomocné látky uvedené v Českém lékopise nebo v seznamu stanoveném prováděcím právním předpisem nebo k jejichž použití bylo vydáno povolení Ministerstvem zdravotnictví či Státní veterinární správou, dále patogeny nebo antigeny odebrané od konkrétních pacientů a registrované léčivé přípravky, je-li tento způsob použití uveden ve schváleném souhrnu údajů o přípravku nebo je-li stanoven prováděcím právním předpisem.¹ Tyto požadavky dále upravuje Vyhláška č. 84/2008 Sb., kdy použití registrovaných léčivých přípravků jako tuhé a polotuhé dělené lékové formy je možné pouze v případě, že není na trhu přítomen léčivý přípravek umožňující dávkování vyznačené na receptu předepsaném lékařem.²

5 Teoretická část

5.1 *Pediatrické přípravky*

Spektrum komerčně dostupných léčivých přípravků pro děti je úzké a specializované použití těchto přípravků je pro velké farmaceutické firmy finančně neatraktivní.³ Proto je mnoho přípravků připravováno magistraliter v lékárně. Pro systémové podání individuálně připraveného léčiva dětem jsou v praxi nejčastěji používány rektální (čípky nebo klyzmata) nebo perorální lékové formy.

5.1.1 Specifika dětské populace

Dětské lékařství (pediatrie) se zabývá zdravím a nemocí lidského jedince od narození do dosažení dospělosti, v České republice do 19. narozenin. Vzhledem k některým diagnostickým a léčebným úkonům již během intrauterinního života, pečuje pediatrie v širším slova smyslu o lidského jedince již od početí.⁴

Tab. 1: Vývojová období dítěte (převzato z citace ⁴)

Vývojový stupeň	Věk
zárodek (embryo)	1. -8. týden nitroděložního života
plod (fetus)	od 9. týdne nitroděložního života do narození
novorozenec	od narození do 28. dne života
kojenec	2. - 12. měsíc života
batole	2. - 3. rok života
předškolák	4. – 6. rok života
školák	od 7. roku života
dospívající	období mezi počátkem dospívání a dospělostí

Novorozenecké období je obdobím adaptace jednotlivých tělních systémů na mimoděložní podmínky. Do patologie tohoto období patří vrozené vývojové vady, např. vrozené vady srdce a plic, poruchy uzávěru tělních trubíc a poruchy

průchodnosti gastrointestinálního traktu, následky perinatální patologie, předchozí infekce a tendence ke generalizaci vzhledem k nezralosti imunitního systému.

Kojenecké období začíná 29. den života a končí v den prvních narozenin dítěte. Je především obdobím dramatického somatického, neuropsychického a motorického vývoje.⁴ Nejcitlivější skupinou z pohledu farmakoterapie jsou samozřejmě nedonošenci a novorozenci, kteří mají nevyzrálý hepatální a renální systém (enzymové vybavení, metabolismus a clearance), odlišný distribuční objem (poměr voda/tuk), nižší orální absorpci a zvýšené riziko průniku látek do CNS. Tito pacienti jsou většinou léčeni na pediatrických klinikách a příprava lékových forem pro ně je tedy soustředěna do nemocničních lékáren.⁶

Pro dávkování některých léčiv v pediatrii je důležitější plocha povrchu těla než váha dítěte. Plochu povrchu těla (*Body surface area*, BSA) můžeme zjistit pomocí několika vzorců, které jsou uvedeny dále. Z těchto možností se doporučuje hlavně Mostellerova formulace.⁵ Přibližná hodnota u novorozence je 0,25 m².

Vzorce pro výpočet BSA:

- The Mosteller formula

$$BSA(m^2) = \sqrt{\left(\frac{[Height(cm) \times Weight(kg)]}{3600}\right)} \quad (1)$$

- The DuBois and DuBois formula

$$BSA(m^2) = 0,20247 \times Height(m)^{0,725} \times Weight(kg)^{0,425} \quad (2)$$

- The Haycock formula

$$BSA(m^2) = 0,024265 \times Height(cm)^{0,3964} \times Weight(kg)^{0,5378} \quad (3)$$

- The Gehan and George formula

$$BSA(m^2) = 0,0235 \times Height(cm)^{0,42246} \times Weight(kg)^{0,51456} \quad (4)$$

- The Boyd formula

$$BSA(m^2) = 0,0003207 \times Height(cm)^{0,3} \times Weight(grams)^{[0,7285 - (0,0188 \times LOG(grams))]} \quad (5)$$

5.1.2 Lékové formy pro pediatrii

Rektální klyzmata mají výhodu variability dávky a možnost aplikace i u novorozenců či nespolupracujících dětí. Jejich použití však patří výhradně na kliniku, kde jsou aplikovány vyškoleným personálem. Rektální čípky mají výhodu v jejich fyzikálně-chemické i mikrobiologické stabilitě, relativně rychlém nástupu účinku, přesnosti dávky a možnosti aplikace i dětem s problematickým perorálním podáním. Jejich nevýhodou je však technologická náročnost přípravy při zajištění obsahové stejnoměrnosti, fixní dávka a nedostatek dat o biologické dostupnosti u jednotlivých léčivých látek v rektálním podání.

Perorální lékové formy můžeme rozdělit na přípravu pevných dělených forem (tobolek) a tekutých lékových forem (roztoky a suspenze). V současné době jsou v lékárně nejčastěji připravovanou lékovou formou pro pediatrické pacienty želatinové tobolky. Pokud je tato léková forma určena dětem, které nejsou schopny tobolku spolknout, slouží želatinová tobolka jako primární obal, jejíž obsah se vysypává do dětské stravy, čaje apod.⁶

Tablety a tobolky jsou obecně nevhodné pro podání dětem do čtyř let,³ Evropská léková agentura (EMA) považuje za zlomový až věk 6 let.⁷ Výhodou tobolek je podobně jako u čípků přesná dávka a dobrá fyzikálně-chemická i mikrobiologická stabilita přípravku. Z hlediska cílové pediatrické skupiny se jedná o bezpečnou lékovou formu stran přítomnosti pomocných látek (žádné konzervanty, barviva, chuťové přísady ani nežádoucí rozpouštědla). Z pohledu rodičů a ošetřujícího personálu se jedná o nepříliš komfortní lékovou formu vzhledem k manipulaci s tobolkami a vysypávání obsahu. Další nevýhodou může být fixní dávka a ze stran připravujícího lékárníka časová i ekonomická náročnost přípravy (homogenizace směsi, cena strojů).⁶

Častým postupem farmaceuta je příprava tekutých lékových forem z tablet, tobolek nebo přímo ze suroviny. Hlavním problémem však stále zůstává nedostatek dat o stabilitě.³

Při formulaci tekutých lékových forem pro pediatrické použití je třeba dbát obezřetnosti. Příprava suspenzí z tablet by měla být zvažována pouze při dostatku

stabilitních dat, zvláště když jsou často dostupné jednodušší a bezpečnější metody. Extrakce z tablet však nemusí být úplná. Pro zajištění co největšího množství rozpuštěné látky je třeba suspenzi pořádně protřepat či promíchat.³ Jako dvoufázové disperzní soustavy jsou suspenze charakteristické svou nestabilitou, která se projevuje především tím, že nerozpuštěná pevná fáze v průběhu skladování sedimentuje. Příprava suspenze je proto z formulačního hlediska náročnější a měla by probíhat jen dle ověřeného předpisu. Cílem je zajištění snadné roztřepatelnosti vzniklého sedimentu a dostatečně stability získané po dobu odběru dávky.⁸

Dalšími možnostmi je příprava vodného roztoku prostým rozpouštěním léčivé látky, nebo perorální podání injekční lékové formy, kdy je třeba zvážit možné rozdíly v rychlosti nebo míře absorpce.^{3,6} Značnou nevýhodou vodných roztoků je, že rozpuštěné látky mohou podléhat hydrolytickému rozkladu a mají díky tomu omezenou stabilitu. Druhou nevýhodou je, že se při aplikaci daleko výrazněji projevuje nepříjemná chuť přítomných složek.⁸

Expirace individuálně připravovaných tekutých přípravků je určena empiricky nebo založena na publikovaných informacích jednotlivých formulací. Při nedostatku informací o stabilitě nebo publikovaných postupech je třeba dbát zvýšené opatrnosti a stanovit maximální dobu použitelnosti na jeden měsíc.³

5.2 Perorální tekutiny (*Liquida Peroralia*)⁹

Jsou to obvykle roztoky, emulze nebo suspenze obsahující jednu nebo více léčivých látek ve vhodném vehikulu. Některé perorální tekutiny mohou být jen samotné kapalné léčivé látky.

Některé přípravky určené k perorálnímu podání se připravují ředěním koncentrovaných tekutých přípravků, prášků nebo granulí, určených pro přípravu perorálních roztoků nebo suspenzí, perorálních kapek nebo sirupu s využitím vhodných pomocných látek.

Pomocné látky pro perorální tekutiny se vybírají s přihlédnutím k povaze léčivé látky (léčivých látek) a k dosažení organoleptických vlastností vhodných k použití přípravku.

Perorální tekutiny mohou obsahovat vhodné protimikrobní látky, antioxidanty a jiné pomocné látky, jako jsou dispergační přísady, stabilizátory suspenzí látky zvyšující viskozitu, emulgátory, tlumivé přísady, smáčedla, solubilizátory, stabilizátory, aromatické přísady, sladidla a barviva schválená oprávněnou autoritou.

V emulzích se mohou oddělovat fáze, které lze protřepáním znovu snadno dispergovat. Suspenze mohou obsahovat sediment, který lze snadno roztřepat; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby umožňovala podání správné dávky.

Rozlišuje se několik druhů perorálních tekutin⁹:

- Perorální roztoky, emulze a suspenze
- Perorální kapky
- Prášky pro perorální kapky
- Sirupy
- Prášky a granule pro sirupy

Při vývoji perorální tekutiny obsahující protimikrobní látku je nezbytné prokázat použití a účinek této přísady. U přípravků dodávaných v jednodávkovém obalu musí být prokázáno, že lze odebrat jmenovitý obsah perorální tekutiny. Při výrobě, balení, skladování a distribuci perorálních tekutin se využívají vhodné způsoby k zajištění jejich mikrobiální čistoty. Odpovídající doporučení jsou uvedena ve stati Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4) v platném Českém lékopise.⁹

Podle způsobu podání jsou stanovena kritéria přijatelnosti pro nesterilní léčivé výrobky, založená na celkovém počtu aerobních mikroorganismů (TAMC) a celkovém počtu kvasinek/plísní (TYMC). Hodnoty se předepisují v jednotkách CFU na gram nebo mililitr lékové formy, přičemž 10^1 CFU představuje nejvyšší přijatelný počet 20, 10^2 CFU = 200, apod.

U vodných přípravků pro perorální podání jsou stanoveny limity TAMC = 10^2 CFU a TYMC = 10^1 CFU. Dále je specifikovaná nepřítomnost *Escherichia coli*. Kromě uvedených mikroorganismů se hodnotí význam dalších zjištěných mikroorganismů s ohledem na použití, povahu výrobku, způsob podání, zamýšleného příjemce (např.

rozdílné riziko pro novorozence či oslabené jedince), používání imunosupresiv nebo přítomnost onemocnění.

Mikrobiologické zkoušení se provádí podle metod uvedených v obecných státech 2.6.12 a 2.6.13 Českého lékopisu⁹.

5.2.1 Účinnost protimikrobních konzervačních látek

Pokud nemá léčivý přípravek vlastní dostačující protimikrobní účinnost, může se, zvláště u přípravků obsahujících vodu, přidat protimikrobní konzervační látka, která za obvyklých podmínek skladování nebo používání zamezí množení mikrobiální kontaminace nebo ji omezí. Používá se zvláště u vícedávkových balení a chrání pacienta před infekcí a před poškozením způsobeným zkažením přípravku. Protimikrobní konzervace se nesmí použít k nahrazení správné výrobní praxe.

Účinnost protimikrobní konzervační látky může být zvýšena nebo snížena léčivou látkou přípravku, do něhož je přidána, nebo jeho celkovým složením, případně jeho obalem nebo uzávěrem. Protimikrobní účinnost léčivého přípravku se stanoví v jeho konečném obalu a v průběhu doby jeho použitelnosti, aby se zajistilo, že se tato účinnost během skladování nenaruší. Toto zkoušení se má provádět na vzorcích odebraných z konečného obalu těsně před zkoušením.

V průběhu vývoje léčivého přípravku se prokazuje, že protimikrobní účinnost přípravku jako takového anebo, je-li třeba, s přidáním vhodné protimikrobní látky nebo látek zajišťuje dostačující ochranu před nežádoucími účinky, které mohou procházet z mikrobiální kontaminace nebo z jeho rozšíření v průběhu skladování a používání přípravku.

Účinnost protimikrobního působení se prokazuje Zkouškou účinnosti protimikrobní konzervace (5.1.3) dle platného Českého Lékopisu.⁹ Podstatou zkoušky je naočkování předepsaného množství vhodných mikroorganismů do léčivého přípravku, pokud možno v jeho konečném obalu, skladování naočkovaného přípravku při předepsané teplotě, odebrání vzorků z obalu v určených časových intervalech a stanovení počtu mikroorganismů ve vzorcích takto odebraných.

Konzervační vlastnosti přípravků jsou dostačující, jestliže při zkoušce za předepsané teploty a v předepsaných časech se počet mikroorganismů v naočkovaném přípravku

významně sníží nebo nevzroste. Požadavky na pokles počtu mikroorganismů v závislosti na čase se liší podle druhu přípravků a stupně požadované ochrany. Mezi zkoušené kmeny patří *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* a *Aspergillus niger*. Zkoušky se provádějí s každým kmenem samostatně. Dále se doporučuje, aby pro všechny perorální přípravky byla použita *Escherichia coli* a pro perorální přípravky obsahující vyšší koncentrace cukru *Zygosaccharomyces rouxii*.

Tab. 2: Požadavky pro hodnocení protimikrobní účinnosti perorálních přípravků⁹

	Logaritmické snížení počtu zárodků	
	14 dní	28 dní
bakterie	3	NI*
houby	1	NI*

* NI = bez zvýšení počtu. Požadavky pro hodnocení protimikrobní účinnosti jsou vyjádřeny v logaritmickém snížení počtu životaschopných zárodků proti hodnotám získaným pro čerstvě naočkované přípravky.

5.2.2 Mikrobiální stabilita

Mikrobiální růst v přípravku může způsobit nepříjemný zápach a chuť, změny ve vzhledu nebo i změny hodnot pH. Vysoký titr mikroorganismů může být velmi riskantní u imunokompromitovaných nebo velmi mladých jedinců. Mikrobiální kontaminace proto musí být minimalizovaná použitím čistých nástrojů, sterilní vody a zabránění kontaminace surovin a obalových materiálů. Některé protimikrobní látky jsou účinné pouze v určitém pH, například kyselina benzoová nebo benzoan sodný jsou účinné pouze v kyselém prostředí s hodnotou pH nižší než 5.³

5.2.3 Chemická stabilita

Léčivé látky v tekutých lékových formách mohou být citlivé na degradaci, nejčastěji se jedná o hydrolýzu, oxidaci a redukci. Obvykle je míra reaktivity ovlivněna hodnotou pH, dále světlem či teplotou. Při přípravě suspenze z tablet mohou hodnotu

pH ovlivnit také použité pomocné látky. Tato skutečnost je patrná například u amiloridu připraveného ze suroviny, který je stabilnější než při přípravě z tablet.³ U stabilitních studií by časy odběru vzorků měly zahrnovat iniciální vzorek ihned po přípravě a poté v časech 1, 3, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 180 dnů.¹⁰

5.2.4 Fyzikální stabilita

Individuálně připravované perorální suspenze mohou být náchylné k sedimentaci. Tento jev může zapříčinit nepravidelnost jednotlivých dávek. Skladování v chladničce, které je žádoucí pro zajištění chemické a mikrobiální stability, může také zvýšit viskozitu a ztížit znovuoobnovení suspenze nebo precipitaci složek přípravku. Při přípravě je vždy nutné zohlednit ovlivnění pH všech použitých látek.³

5.2.5 Požadavky na perorální tekutiny⁹

5.2.5.1 Stejnoměrnost dávkových jednotek

Roztoky, suspenze a emulze v jednodávkových obalech vyhovují zkoušce na stejnoměrnost dávkových jednotek (2.9.40). Pomocí vhodné analytické metody se stanoví obsah léčivé látky reprezentativního vzorku šarže. Tato hodnota je výsledek A vyjádřený jako procenta obsahu uvedeného v označení obalu. Zváží se přesné množství tekutiny odebrané z každého z deseti jednotlivých obalů a vypočítá se obsah léčivé látky v každém obalu z hmotnosti přípravku odebraného z jednotlivého obalu a výsledku stanovení obsahu. Vypočítá se hodnota přijatelnosti (AV).

$$x_i = w_i \cdot \frac{A}{\overline{W}} \quad (6)$$

x_i – jednotlivé předpokládané obsahy zkoušených dávkových jednotek; w_i – jednotlivé hmotnosti zkoušených dávkových jednotek; A – obsah účinné látky v procentech; \overline{W} – průměr jednotlivých hmotností jednotek použitých ve stanovení obsahu. Požadavky jsou splněny, je-li hodnota přijatelnosti u prvních deseti hodnocených jednotek menší nebo rovna LI . Je-li hodnota přijatelnosti vyšší, zkouší se dalších dvacet dávkových jednotek a vypočítá se hodnota přijatelnosti. Požadavky jsou splněny, je-li konečná hodnota přijatelnosti třiceti dávkových jednotek menší

nebo rovna $L1$ a žádný jednotlivý obsah dávkových jednotek není menší než $(1 - L2 \cdot 0,01)M$ nebo větší než $(1 + L2 \cdot 0,01)M$ při výpočtu hodnoty přijatelnosti. Není-li uvedeno jinak, $L1$ je 15,0 a $L2$ je 25,0.

5.2.5.2 Obsahová stejnoměrnost

Není-li předepsáno nebo zdůvodněno a schváleno jinak, jednodávkové tekuté přípravky ve formě suspenze vyhovují následující zkoušce (2.9.6). Po protřepání se každý obal co nejvíce vyprázdní a stanoví se jednotlivé obsahy. Přípravek vyhovuje zkoušce B: Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže nejvýše jeden jednotlivý obsah léčivé látky je mimo rozmezí 85 % až 115 % průměrného obsahu léčivé látky.

5.2.5.3 Hmotnostní stejnoměrnost

Jednodávkové tekuté přípravky ve formě roztoku nebo emulze vyhovují následující zkoušce. Zváží se jednotlivé hmotnosti obsahu 20 obalů co nejvíce vyprázdněných a vypočítá se průměrná hmotnost. Nejvýše dvě jednotlivé hmotnosti se odlišují od průměrné hmotnosti o více než 10 % a žádná se neliší o více než 20 %.

5.2.5.4 Dávka a dávková stejnoměrnost perorálních kapek

Do vhodného odměrného válce se pomocí kapacího zařízení odkape obvykle předepisovaný počet kapek pro jednu dávku nebo se do odměrného válce vpraví pomocí odměrky obvykle předepisovaná dávka. Rychlost kapání nepřesahuje dvě kapky za sekundu. Tekutiny se zváží, nakapání se opakuje a opět se zváží. Celý postup se opakuje, až se stanoví jednotlivé hmotnosti deseti dávek. Vypočítá se průměrná hmotnost. Žádná z jednotlivých hmotností se neliší od průměrné hmotnosti o více než 10 %. Celková hmotnost deseti jednotlivých hmotností se neliší o více než 15 % od jmenovité hmotnosti deseti dávek. Je-li třeba, odměří se objem deseti dávek. Tento objem se neliší o více než 15 % od jmenovitého objemu deseti dávek.

5.2.5.5 Hmotnostní stejnoměrnost jednotlivých dávek ve vícedávkových obalech

Perorální tekutiny dodávané ve vícedávkových obalech vyhovují zkoušce hmotností stejnoměrnosti jednotlivých dávek ve vícedávkových obalech (2.9.27). Jednotlivě se zváží dvacet dávek, které byly náhodně odebrány dávkovacím zařízením z jednoho nebo více obalů a stanoví se jednotlivá a průměrná hmotnost. Nejvýše dvě jednotlivé hmotnosti se mohou odchýlit od průměrné hmotnosti o více než 10 % a žádná se nesmí odchýlit o více než 20 %. Perorální kapky nejsou předmětem zkoušky.

5.3 Pomocné látky pro pediatrické perorální tekutiny

U pediatrických přípravků by pro tekuté lékové formy měly být používány pouze takové látky, které jsou vhodné pro dětské pacienty. Volba by se přitom měla opírat o ověřené receptury z validních zdrojů, založených na stabilitních studiích. Při formulaci je důležité zohlednit možné nežádoucí účinky pomocných látek.

5.3.1.1 Vehikula

Základním rozpouštědlem pro přípravu perorálních tekutin v pediatrii je čištěná voda nebo voda na injekci. Glycerol není vhodný především u nedonošených dětí, a to z důvodu vysoké osmolarity, která může mít za následek poškození trávicího traktu. Ethanol je pro děti nevhodný vzhledem k nežádoucím účinkům na centrální nervový systém. Toto nebezpečí závisí na dávce a je výrazně zvýšeno při opakovaném podávání roztoků s obsahem ethanolu, kdy může docházet ke kumulaci dávek. Propylenglykol je omezeně odbouráván u dětí do 4 let a je tedy nevhodný.⁸

Roztoky určené novorozencům by měly obsahovat jen nejnutnější komponenty. Z důvodů nedozrálého metabolismu by perorální přípravky neměly obsahovat ethanol, protimikrobní látky ani korigencia chuti.

Americký lékopis¹¹ uvádí složení některých univerzálních vehikul vhodných pro tekuté přípravky. Jejich přehled je uveden v tabulce 3, kde jsou použity následující zkratky: Oral Solution NF (OS), Oral Solution Sugar free NF (OSSF), Suspension structured vehicel NF (SSV), Suspension structured vehicle Sugar free NF (SSVSF),

Vehicle for Oral suspension NF (VOS), mikrokrytalická celulóza (MCC). Složení je doplněno informacemi o době použitelnosti při teplotě 25 °C, v dobře uzavřené nádobě, chráněné před světlem.⁸

Tab. 3: Přehled USP vehikul používaných v tekutých perorálních přípravcích (převzato z citace ⁸)

Složení	Roztoky		Suspenze		
	OS	OSSF	SSV	SSVSF	VOS
sacharosa	80,0 g	-	20,0 g	-	-
glycerol 85%	5,0 g	10 ml	-	2 ml	-
sorbitol	5,0 g	25ml 70% w/v roz.	-	2,0 g	-
mannitol	-	-	-	2,0 g	-
sacharin Na ⁺	-	0,1 g	-	0,2 g	-
simetikon	-	-	-	-	0,1 ml
xanthanová klovatina	-	0,05 g	0,15 g	0,2 g	0,2 g
karagenan	-	-	-	-	0,15
MCC	-	-	-	-	0,8 g
karmelosa Na ⁺	-	-	-	-	0,025 g
hydrogenfosfát Na ⁺	0,12 g	-	-	-	0,12 g
kys. Citronová	0,2 g	1,5 g	0,15 g	0,1 g	0,25 g
citrát Na ⁺	-	2,0 g	-	-	-
methylyparaben	0,1	0,1	-	-	0,1
sorbát K ⁺	0,1	0,1	0,15	0,15	0,1
čištěná voda ad	100,0 ml	100,0 ml	100,0 ml	100,0 ml	100,0 ml
expirace	6 měsíců	6 měsíců	30 dní	30 dní	6 měsíců

5.3.1.2 Látky zvyšující viskozitu

Viskozitní přísady jsou obvykle nezbytnou součástí suspenze, kde slouží ke zpomalení sedimentace částic, případně k ovlivnění vazby mezi částicemi tuhé fáze. U perorálních dětských přípravků se velmi často používají deriváty celulosy, v České republice přicházejí do úvahy methylcelulosa, sodná sůl karmelosy nebo hypromelosa. V praxi se velmi osvědčuje 1,5% methylcelulosový sliz, který má vhodné organoleptické vlastnosti, je stabilní při pH 3-10 a vzhledem ke své neionogenní povaze vykazuje minimum interakcí. Další důležitou vlastností je možnost sterilizace v autoklávu. Kromě polysyntetických derivátů celulosy jsou na trhu dostupné přírodní polymery jako akáciová klovatina (*Accaciae gummi*) a tragant. Největším problémem těchto látek je vysoké riziko mikrobiální kontaminace a časté inkompatibility.⁸

5.3.1.3 Protimikrobní konzervační látky

K zábraně sekundární kontaminace nebo za účelem inhibice růstu mikroorganismů se do nesterilních i sterilních vícedávkových léčivých přípravků přidávají protimikrobní konzervační látky. Mezi nejčastější používané protimikrobní přísady u perorálních tekutin pro děti patří benzoan sodný, který má bakteriostatické i antimykotické vlastnosti. Benzoan sodný má dobrý bezpečnostní profil, jeho kancerogenní ani embryotoxické vlastnosti nebyly prokázány.⁸

Sorbát draselný má velmi nízkou toxicitu, pouze ve vysokých dávkách může vyvolat iritaci kůže nebo sliznice.¹² Maximální dávka dle WHO je 25 mg/kg/den. Při přípravě roztoků je nutné látky s nižší rozpustností rozpouštět v horké vodě.

Obecným problémem u protimikrobních látek je možnost snížení účinku díky adhezi na obalový materiál, zejména plasty, nebo vlivem interakcí s ostatními pomocnými látkami. Při přípravě vodných perorálních roztoků bez protimikrobních přísad je během přípravy třeba minimalizovat možnost kontaminace. Proto by se měla příprava realizovat aseptickým postupem v čistém prostředí třídy čistoty A s použitím sterilní lékovky a vody na injekci. Tyto přípravky je doporučováno skladovat za snížené teploty. Vhodnou volbou obalu, umožňujícího přesné dávkování

a zároveň minimalizujícího kontaminaci v průběhu užívání, je lékovka se speciální plastovou vložkou, která umožňuje odběr přípravku perorální stříkačkou nebo pipetou.⁸

5.3.1.4 Korigencia chuti

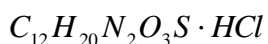
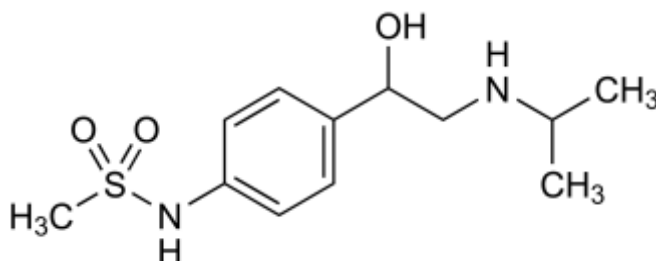
Sacharosa je ve formě prostého sirupu klasickým standardem při ochucování pediatrických perorálních tekutin. Potenciálně však zvyšuje kazivost zubů a je kontraindikována u dětí s diabetem nebo intolerancí fruktosy. Mezi další sladidla, která jsou pro dětské pacienty k dispozici, patří také glukosa a sorbitol. V USP¹¹ je oficiální jeho 70% roztok, který je podobně jako náš sirup mikrobiálně stabilní i bez přídavku protimikrobních přísad. Má poloviční sladivost ve srovnání se sacharosou, významnou nevýhodou je jeho laxativní účinek projevující se ve vyšších dávkách. Z umělých sladidel přichází do úvahy i sodná sůl sacharinu, která je velmi snadno rozpustná ve vodě a 300 krát sladší než sacharosa. Pro překrytí hořké chuti je u pediatrických formulací dostačující koncentrace 0,05-0,1 %. Přestože jsou sacharin a jeho sůl považovány za bezpečné látky, otázkou zůstává vhodnost dlouhodobého používání u malých dětí.

5.3.1.5 Tlumivé přísady

Tlumivé přísady slouží ke zpomalení hydrolytických a oxidoredukčních reakcí. Oxidací a hydrolýzou mohou vznikat produkty neúčinné, dráždivé až toxické. U perorálních roztoků určených pro děti lze použít citrátové, fosfátové nebo citráto-fosfátové pufrovací systémy, které významně prodlouží chemickou stabilitu rozpuštěné účinné látky. Hodnotu pH lze snížit i přidáním samotné kyseliny citronové nebo naopak zvýšit přidáním hydroxidu sodného nebo trometamolu.⁸ Citráto-fosfátové pufrы dle McIlvane lze použít pro vnitřní, vnější i oční podání.¹³

5.4 Sotalol hydrochlorid

N-{4-[(1RS)-1-hydroxy-2-(isopropylamino)ethyl]fenyl}methansulfonamid-hydrochlorid



Sotalol hydrochlorid (SOT) patří mezi betablokátory a antiarytmika. Blokuje β -adrenergní receptory a káliové kanály, čímž se řadí do třídy II. a III. dle klasifikace podle Vaughana a Williamse. Betablokátory jsou účinné v terapii arytmií spojených s aktivitou sympatiku. Snížením fosforylace vápníkového kanálu jej nepřímo blokují a snižují tím frekvenci spontánních depolarizací v atrioventrikulárním a sinoatriálním uzlu. Zároveň bloádou β -receptorů brání vyplavení vápníku z intracelulárního prostoru. Blokátory káliových kanálů prodlužují trvání akčního potenciálu, a tím prodlužují dobu absolutní refrakterní fáze.¹⁴

Sotalol vyniká výhodnou krátkou dobou účinku omezující riziko vzniku déletrvající bradykardie. Může se uplatnit v léčbě komorových i supraventrikulárních arytmií rezistentních na jiná antiarytmika (včetně amiodaronu). Jeho použití je výhodné u pacientů, kteří zároveň mají arteriální hypertenzi, anginu pectoris nebo jsou po infarktu myokardu.¹⁴ L-enantiomer je čisté neselektivní β -sympatolytikum, zatímco D-enantiomer má antiarytmické vlastnosti.¹⁵ Klinicky užívaný sotalol je racemická směs dvou stereoizomerů, naděje vkládané do užití jednoho z izomerů (d-sotalol) se nepotvrdily.¹⁴

Společným nežádoucím účinkem antiarytmik třídy III. je zvýšené riziko arytmií torsades de pointes (TdP), zvláště při hypokalémii nebo při kombinaci antiarytmik.¹⁴ Především při léčbě komorových arytmií je riziko vzniku TdP závislé na dávce. TdP

vznikají většinou na počátku léčby, v průběhu léčby je třeba zvýšeně dbát na rovnováhu elektrolytů a při renální insuficienci je třeba adekvátně redukovat dávky sotalolu. Klinicky lehce prodlužuje PR a QT interval a zpomaluje srdeční frekvenci. Negativní inotropní efekt je jen mírný, nicméně čím horší je funkce levé komory, tím více se tento efekt uplatňuje. Tím, že se neváže na plazmatické proteiny, nevytváří prakticky žádné interakce s ostatními léky.¹⁶ Za významnou je možno považovat interakci s epinferinem, zvýšením rizika bradykardie a hypotenze způsobí současné podání verapamilu a diltiazemu, kdy dochází k vzájemnému potencování negativně dromotropního a negativně inotropního účinku. Kontraindikací je přecitlivělost na sulfonamidy, dále např. současná léčba léčivy prodlužujícími QT interval, astma bronchiale, CHOPN.¹⁷

5.4.1 Farmakokinetika sotalolu

Po perorálním podání SOT se vstřebává 60-100 % dávky.¹⁷ Jídlo snižuje absorpci přibližně o 20 %. Při distribuci v organismu pouze slabě přechází přes hematoencefalickou bariéru, přechází však do mateřského mléka.¹⁸ Jen minimálně se metabolizuje v játrech, vylučuje se převážně močí v nezměněné formě. Biologický poločas je 7-18 hodin.¹⁷ Nejvyšší hladiny je u dětí od 4 dnů do 12 let dosaženo za 2-3 hodiny, u dospělých za 2,5-4 hodiny. Sotalol má v těhotenství rizikový faktor třídy B.¹⁸

Tab. 4: Biologický poločas sotalol hydrochloridu v závislosti na věku.¹⁸

Věk	Průměrný biologický poločas
Novorozenci ≤ 1 měsíc	8,4 hodiny
Kojenci a batolata 1-24 měsíců	7,4 hodiny
Děti 2-7 let	9,1 hodiny
Děti 7-12 let	9,2 hodiny
Dospělí	12 hodin
Dospělí s ledvinným selháním (anurie)	až 69 hodin

Tab. 5: Eliminace sotalol hydrochloridu v závislosti na věku.¹⁸

Věk	Clearance
Novorozenci ≤ 1 měsíc	11 ml/min
Kojenci a batolata 1-24 měsíců	32 ml/min
Děti 2-7 let	63 ml/min
Děti 7-12 let	95 ml/min

5.4.2 Dávkování sotalolu

Dávkování betablokátorů u dětí, které vychází z údajů pro dospělé pacienty, je individuální podle míry dosaženého efektu a tolerance. Perorální dávkování sotalolu se pohybuje v rozmezí 60 – 180 mg/m²/den, 2-3x denně. QTc interval by se při normální šířce QRS neměl prodloužit na více než 500 ms.¹⁹ Sotahexal je v České republice jediný registrovaný léčivý přípravek sotalol hydrochloridu. Jedná se o perorální tablety v dávce 160 mg nebo 80 mg v jedné tabletě.²⁰

5.4.3 Vlastnosti sotalolu

Sotalol hydrochlorid je bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu 96%, prakticky nerozpustný v dichlormethanu. Stanovení obsahu se provádí v bezvodém prostředí pomocí nepřímé titrace.⁹

5.4.4 Stabilita sotalolu

Sotalol hydrochlorid je stabilní v rozmezí hodnot pH 4-5.²¹ Měření stability sotalolu ve vodné suspenzi bylo provedeno ve třech studiích.

V kanadské studii z roku 1988 byly sledovány dvě suspenze připravené z tablet sotalolu, z nichž jedna obsahovala jako vehikulum pouze 1% methylcelulosový sliz, druhá 1% methylcelulosový sliz a prostý sirup v poměru 7:3. Suspenze s koncentrací sotalolu 5 mg/ml byly skladovány po dobu 12 týdnů při teplotách 4 °C, 25 °C, 37 °C a 45 °C. Každé 4 týdny byl analyzován vzorek pomocí HPLC. Koncentrace sotalolu zůstala v zkoušeném rozmezí 110-90 procent po celou dobu skladování při všech teplotách. Při skladování za pokojové teploty nedošlo po osmi týdnech k signifikantní změně pH z průměrné hodnoty 5,04. Za snížené teploty v lednici se

pH zvýšilo na 6,6 při zachování chemické stability. Při testování mikrobiální nezávadnosti neprokázaly mikrobiální testy žádný růst bakterií u suspenze skladované v lednici při 4 °C po 8 týdnech.²²

V americké studii z roku 2003 byly sledovány dvě suspenze připravené z tablet sotalolu skladované v plastických lahvích při teplotách 4 °C a 25 °C. Jedno vehikulum obsahovalo 1% methylcelulosový sliz a prostý sirup v poměru 1:9, druhé vehikulum bylo složeno z komerčních vehikul Ora Plus a Ora Sweet v poměru 1:1. Koncentrace sotalolu byla 5 mg/ml a vzorky byly analyzovány pomocí HPLC v časech 0, 7, 14, 18, 42, 56, 70 a 91 dnů. Po třech měsících byla koncentrace vzorků skladovaných při teplotě 4 °C alespoň 95,5 % iniciální koncentrace, při skladování při teplotě 25 °C minimálně 94,4 %. Během studie nedošlo k podstatné změně pH.²³

V další americké studii z roku 2005 byly zkoumány celkem tři suspenze s koncentrací sotalolu 5 mg/ml. Jednotlivá vehikula obsahovala komerční vehikula Ora-Plus:Ora-Sweet, Ora-Plus:Ora-Sweet SF a směs methylcelulosového slizu a prostého sirupu v poměru 2,4:1. Suspenze byly skladovány při teplotě 2-8 °C a 20-25 °C a analyzovány pomocí HPLC. Po dobu 12 týdnů byly vzorky shledány stabilními v rozmezí 110-90 % iniciální koncentrace.²⁴ Mikrobiální nezávadnost je u obou amerických studií zajištěna přítomností protimikrobní přísady v komerčních vehikulech, nebo benzoanem sodným v methylcelulosovém slizu.^{23,24}

5.4.5 Pediatrické formulace se sotalolem

Sotalol hydrochlorid je komerčně dostupný převážně ve formě tablet v dávkách určených pro dospělé. Pro zajištění nižších dávek pro pediatrické pacienty se nejčastěji používají individuálně připravované tobolky. V České republice není nutné používat k této přípravě tablety, jelikož je komerčně dostupná prášková surovina. Z tekutých lékových forem je v zahraničí nejběžnější příprava perorálních suspenzí z tablet. Tento způsob je obzvláště využíván v Severní Americe, kde se pro jejich přípravu používají komerčně vyráběná vehikula vycházející z USP¹¹, nebo 1% methylcelulosový sliz.²⁵ Německý receptář NRF²⁶ popisuje formulace roztoku připravené injekcí SOT společně se sorbátem draselným, bezvodou kyselinou citronovou a případně sacharosu.

6 Experimentální část

6.1 Použité suroviny

Název látky	Kvalita	Dodavatel
Sotaloli hydrochloridum (SOT)	ČL 2009	Fagron a.s.
Kalii sorbas	Ph. Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma s.r.o.
Acidum citricum monohydricum	Ph. Eur. 6.0	Dr.Kulich Pharma s.r.o.
Sirupus simplex	ČL 2009	Fagron a.s.
Sterile water for injection „Fresenius“	Ph. Eur. 6.0	Fresenius Kabi S.r.l.
Saccharinum natricum	Ph. Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma s.r.o.
Natrii hydrogenphosphas dodecahydricus	Ph. Eur. 6.1	Dr.Kulich Pharma s.r.o.
Ultračistá voda		FaF UK
Natrii chloridum	Ph. Eur. 5.0	Dr.Kulich Pharma s.r.o.
SotaHEXAL 80mg tbl 50	Registrovaný LP	
Kyselina dusičná RS		FN Motol
Dusičnan stříbrný 0,1 mol/l		FN Motol

Kalibrační roztoky pro měření pH:

KA-direct, technický pufr TB4 (pH 4,01)

KA-direct, technický pufr TB7 (pH 7,00)

6.2 Použité přístroje

Váhy KERN EW 150-3M, Kern & Sohn GmbH, Německo

Váhy KERN EW 1500-2M, Kern & Sohn GmbH, Německo

Analytické váhy Classic AB204-S/M, Mettler-Toledo s.r.o., Švýcarsko

WTW mikroprocesorový pH metr 538, WTW GmbH, Německo

Hustoměr DMA 4100M, Anton Paar, Rakousko

Ultrazvuková lázeň Sonorex RK 106, Bandelin GmbH & Co. KG, Německo

Automatický semi-mikro osmometr, Wissenschaftliche Gerätebau Knauer GmbH,
Německo

Mikropipeta Research 200, Eppendorf Czech & Slovakia s.r.o., Česká republika

ABBE-Refraktometr, Carl Zeiss Jena, Německo

InoLab pH Level 1, WTW GmbH, Německo

Kovová stříbrná kombinovaná elektroda AgC 103, Theta '90, Česká republika

Váhy Mettler PM1200, METTLER-TOLEDO AG, Švýcarsko

6.3 Použité metody

6.3.1 Příprava vzorků

Příprava roztoků pro stabilitní studii

Na vahách s přesností na tři desetinná místa jsem navažoval práškové látky a poté je převedl do vytárované kádinky s tyčinkou. Vždy po přidání další látky jsem roztok míchal do rozpuštění substance.

Při přípravě jsem vždy začal tvorbou citráto-fosfátového pufru, pokud byl přítomen. K navážce kyseliny citronové jsem přidal přibližně 75 g vody. Poté jsem postupně přidával dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného, sotalol hydrochlorid a sorbát draselný. Na závěr jsem přidal prostý sirup nebo sodnou sůl sacharinu a doplnil vodou na injekce do celkové hmotnosti odpovídající 100 ml.

Připravil jsem celkem 8 vzorků označených VZ1 – VZ8. Složení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 6.

Tab. 6: Složení vzorků pro stabilitní studii v gramech

	VZ1	VZ2	VZ3	VZ4	VZ5	VZ6	VZ7	VZ8
Sotalol HCl	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	-	0,50	-
Sorbát draselný	-	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
Kyselina citronová	-	-	0,08	0,08	0,30	0,30	0,30	0,30
Dodekahydrát hydrogenfosfo- rečnanu sodného	-	-	-	-	0,74	0,74	0,74	0,74
Prostý sirup	-	-	20,0	-	20,0	20,0	-	-
Sacharin sodná sůl	-	-	-	0,10	-	-	0,10	0,10
WFI ad	100,0	100,0	104,7	100,0	104,7	104,7	100,0	100,0

Příprava vzorků vehikul

Vzorky vehikul s označením VZ9 až VZ11 jsem připravil dle složení uvedeného v tabulce 7. Složení v tabulce odpovídá objemu 100 ml.

Citráto-fosfátový pufr (VZ11) jsem připravil prvně rozpuštěním kyseliny citronové a poté dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu sodného. VZ9 obsahuje pouze prostý sirup. V práci byl použit komerční přípravek Sirupus simplex.

Tab. 7: Složení vzorků vehikul v gramech

	VZ9	VZ10	VZ11
Kyselina citronová	-	-	0,30
Dodekahydrát hydrogenfosfo- rečnanu sodného	-	-	0,74
Prostý sirup	131	20	-
WFI ad	-	104,7	100,0

Značení vzorků (kódy):

Vzhledem ke složitosti přípravků jsem pro označení jednotlivých vzorků použil také kódy pro přehledné zobrazení složení. Kódy vzorků jsou sestaveny pomocí zkratk

uvedených v tab 8 a čísla. Číslo za zkratkou suroviny udává procentuální obsah dané složky v roztoku (w/v), není-li uvedeno jinak.

Tab. 8: Značení použitých surovin a vehikul

SOT5	Sotalol 5mg/ml (0,5%)
K	Sorbát draselný
C	Kyselina citronová
D	Prostý sirup
P	Dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného
S	Sacharin sodná sůl
CFP	Citráto-fosfátový pufr
WFI	Voda na injekce

Tab. 9: Kódy vzorků

VZ1	SOT5
VZ2	SOT5 K0,14
VZ3	SOT5 C0,08 D20 K0,14
VZ4	SOT5 C0,08 S0,1 K0,14
VZ5	SOT5 CFP D20 K0,14
VZ6	CFP D20 K0,14
VZ7	SOT5 CFP S0,1 K0,14
VZ8	CFP S0,1 K0,14

Příprava suspenzí

Připravoval jsem celkem dvě suspenze vždy 15 tablet SotaHEXAL 80 mg doplněných na objem 240 ml. U první suspenze (SUS1) jsem rozdrtil tablety v třence a poté rozmíchal s trochou vody na injekce. Suspenzi jsem převedl do válce 500 ml se zábrusem a třenku 3x propláchnul vodou, abych získal veškerý obsah tablet. Vodou na injekce jsem doplnil objem na 240 ml. U druhé suspenze (SUS2) odpovídající přibližně složením VZ3, jsem si roztok VZ3 bez sotalolu připravil

do kádinky doplněný vodou na injekce pouze do 100 ml. Rozdrcené tablety v třence jsem smíchal s připraveným roztokem a převedl do válce se zábrusem. Vodou na injekce jsem opět 3x propláchnul třenku i kádinku a doplnil vodou na injekce na 240 ml. Obě suspenze jsem ponechal přibližně 4 hodiny stát a poté jsem je zfiltraval přes filtrační papír. U filtrátů jsem stanovil obsah potenciometrickou titrací na chloridy, index lomu a pH.

6.3.2 Hodnocení vlastností a stability přípravků

Vzorky roztoků SOT a vehikul jsem použil pro měření hustoty a osmolality.

Pro předběžnou stabilitní studii jsem všechny vzorky VZ1 až VZ8 připravil ve dvou navážkách (šaržích A a B) v množství 100 ml a rozdělil na polovinu (50 ml). Jednu jsem skladoval při pokojové teplotě (20-25 °C) a druhou v chladničce (2-8 °C). Ve stanovených intervalech 0,1,3,7,14,30,60, 90 dnů¹⁰ jsem sledoval vzhled přípravku a měřil pH vzorku.

6.3.2.1 Měření pH

Před samotným měřením je třeba přístroj kalibrovat pomocí kalibračních roztoků. Použil jsem roztok o pH 7,00 a 4,01 vzhledem k předpokládaným hodnotám pH měřených roztoků. Před měřením jsem vytáhl skleněnou elektrodu z roztoku chloridu draselného, opláchnul destilovanou vodou a osušil. Poté jsem elektrodu ponořil do předem promíchaného měřeného vzorku a vyčkal na ustálení hodnoty pH.

Vzorky uchovávané při pokojové teplotě jsem měřil přímo, vzorky uchovávané v chladničce jsem 2-3h před měřením umístil do laboratorních podmínek k temperaturaci. U VZ1 se pH ustalovalo kolem 15-30 minut, u VZ2 5-10 minut a u ostatních bylo možné odečítat hodnoty přibližně za jednu minutu.

Každý vzorek jsem měřil třikrát a vyjádřil průměr. Výsledky měření pH v průběhu skladování vzorků při pokojové teplotě (room), nebo v chladničce (cold) jsou uvedeny v tabulkách 16-23.

6.3.2.2 Měření hustoty

Měření hustoty $\rho(\text{g/cm}^3)$ jsem realizoval na hustoměru DMA 4100M. Hustoměr jsem po zapnutí nechal 15 minut stabilizovat. Během této doby jsem si připravil odpěněnou ultračistou vodu tak, že jsem kádinku s vodou ponechal 5 minut v ultrazvukové lázni. Pomocí injekční stříkačky jsem prvně promyl měřící celu cca 5 ml vody a poté zkontroloval její hustotu při 20 °C (0,9984 g/cm³). Během plnění jsem kontroloval nepřítomnost bublin v měřící cele. Při měření jsem nastavil teplotu měření, do cely naplnil přibližně jeden mililitr vzorku a změřil hustotu. Potom jsem celu znovu naplnil a měření opakoval. Mezi jednotlivými vzorky jsem celu promyl ultračistou vodou, poté vzorkem a pokračoval stejným postupem.

Po skončení měření jsem celu propláchl ultračistou vodou, následně vysušil vzduchem z prázdné stříkačky a nastavil teplotu zpět na 20 °C. Hustoměr má vlastní ventilátor na závěrečné vysušení cely.

Každý vzorek jsem změřil pětkrát při teplotě 8, 20 a 25 °C. Vypočítal jsem průměrnou hustotu a směrodatnou odchylku.

Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 15.

6.3.2.3 Měření osmolality

K měření jsem použil semi-mikro osmometr Knauer. Zapnutý přístroj je třeba nechat přibližně 10 minut stabilizovat. Před vlastním měřením vzorků je nutné přístroj kalibrovat pomocí ultračisté vody (0 mOsmol/kg) a standardu 400 mOsmol/kg. K měření jsem použil skleněnou zkumavku naplněnou pomocí mikropipety objemem 0,15ml kapaliny. Vzorek musí být prostý bublinek. Po naplnění jsem zkumavku opatrně nasunul na termistor a vložil do chladicí komůrky. Po temperaci vzorku je možné zahájit měření. Po měření je nutné vzorek nechat prvně rozmraznout a poté lehce promíchat vibrátorem.

Před měřením vlastních vzorků jsem přístroj kalibroval pomocí roztoků chloridu sodného v rozmezí 100-700 mOsmol/kg dle ČL 2009.⁹

$$y = 1,001286 \cdot x + 1,55 \quad (7)$$

V kalibrační rovnici (7) x označuje ideální hodnotu osmolality (mOsmol/kg) a y naměřenou hodnotu osmolality (mOsmol/kg).

Po výměně vzorku jsem vždy opláchl termistor i skleněnou zkumavku a osušil je.

Po skončení měření jsem termistor i zkumavku očistil a osušil.

Každý vzorek jsem měřil pětikrát. Pokud se v pěti měřeních hodnoty lišily o více než jedno procento, provedl jsem měření celkem desetkrát. Pomocí kalibrační rovnice (7) jsem vyjádřil skutečnou osmolalitu (mOsmol/kg). V tabulce 15 jsem shrnul průměrné hodnoty osmolality vzorků se směrodatnou odchylkou.

6.3.2.4 Potenciometrická titrace na chloridy

Stanovení obsahu pomocí potenciometrického stanovení chloridů jsem prováděl s pomocí kombinované elektrody AgC 103 a potenciometru inoLab pH Level 1. K přibližně přesně 50,000 g jsem přidal 6ml kyseliny dusičné RS a titroval dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l za potenciometrické indikace. V okolí bodu ekvivalence jsem přidával titrační činidlo po 0,1ml. Spotřebu titračního činidla v bodě ekvivalence jsem určil numerickou metodou pomocí rovnice (8).

$$V_x = V_n + \Delta V_n \cdot \frac{\Delta^2 pH_n}{\Delta^2 pH_n - \Delta^2 pH_{n+1}} \quad (8)$$

kde V_x - hledaný objem titračního činidla, V_n - objem činidla odpovídající poslední kladné druhé diferenci pH, ΔV – konstantní přídavek činidla v okolí bodu ekvivalence, $\Delta^2 pH_n$ poslední kladná hodnota druhé difference, $\Delta^2 pH_{n+1}$ první záporná hodnota druhé difference, přičemž:

$$\Delta^1 pH_n = pH_n - pH_{n-1} \quad \text{a} \quad \Delta^2 pH_n = \Delta^1 pH_{n+1} - \Delta^1 pH_n \quad (9)$$

Každé stanovení jsem provedl třikrát. Z rovnice (10) jsem třikrát vypočítal obsah sotalol hydrochloridu a provedl průměr.

$$\% = \frac{V \cdot f \cdot He \cdot 100}{nav.} \quad (10)$$

kde % - obsah sotalol hydrochloridu, V - spotřeba titračního činidla, f - titrační faktor, He - hmotnostní ekvivalent sotalol hydrochloridu, $nav.$ - navážka v gramech.

6.3.2.5 Měření indexu lomu

Index lomu jsem měřil na ABBE-Refraktometru. Před měřením jsem ho nechal zapnutý přibližně 15 minut. Na sklíčko refraktometru jsem nakápl malé množství měřeného roztoku. Otočnými šrouby jsem uvedl ostré rozhraní do středu nitkového kříže a odečetl hodnotu indexu lomu. Každé měření jsem provedl třikrát a vypočítal průměr. Po každém měření jsem pečlivě očistil měřící celu.

7 Výsledky a diskuze

7.1 Preformulační studie

V dnešní době je na českém trhu dostupný pouze jeden hromadně vyráběný přípravek s účinnou látkou sotalol hydrochlorid, a to ve formě tablet v dávkách 80 mg, nebo 160 mg v jedné tabletě.²⁰ Tyto dávky mnohonásobně převyšují dávky v pediatrii a musí se připravovat individuálně připravované tobolky s nižším obsahem účinné látky. Ty se v běžné praxi připravují z hromadně vyráběných tablet drcením, nebo přímo ze suroviny. Tobolky jsou pro novorozence nevhodnou lékovou formou. Před podáním se většinou vysypávají do kojenecké stravy. Vzhledem k rozdílné váze či ploše těla dítěte a tudíž i dávkování u pediatrických pacientů, přináší využití roztoku sotalolu jednoduché řešení jak pro přípravu, tak pro flexibilní dávkování. Před formulací roztoku sotalolu jsem si stanovil hlavní cíle, kterými bylo co nejméně pomocných látek, stabilita a mikrobiální nezávadnost alespoň 3 měsíce. Jelikož je sotalol užíván u novorozenců po dobu přibližně jednoho roku třikrát denně, hrála důležitou roli i chuť.

Sotalol je snadno rozpustný ve vodě.⁹ Jeho použití jakožto roztoku je nasnadě vzhledem k jeho chemické stabilitě ve vodném roztoku.²³ Tyto vlastnosti ho předurčují k jednoduché formulaci bez nutnosti přídavku velkého množství pomocných látek. Optimální pH je se pohybuje v rozmezí 4-5,5 (NRF²⁶) či 4-5 (Trissel's²¹).

7.1.1 Zkoušené roztoky

V preformulačních studiích jsem využil dřívější formulace a literární informace o pomocných látkách. Připravil jsem několik složení roztoků označených PS1 až PS14. Složení jednotlivých roztoků je uvedeno v tabulce 14.

Jako první jsem připravil roztok sotalolu o koncentraci 5 mg/ml ve vodě na injekci (*PS1*) a změřil jeho pH, které bylo 5,44. Chuťově je tento roztok jen lehce nahořklý, až bez chuti.

K zajištění mikrobiální nezávadnosti jsem se rozhodl použít sorbát draselný vzhledem k jeho nízké toxicitě.¹² Použití sorbátu draselného a dalších pomocných látek vychází z formulací roztoku sotalolu v NRF.²⁶ Připravil jsem roztok sorbátu draselného 0.14% (**PS2**), jeho pH bylo 7,31. Jako další jsem připravil již kombinaci SOT5mg/ml a sorbátu draselného 0,14% (**PS3**). Kombinací těchto látek se pH ustálilo na 6,30. Dle výsledků měření pH je vidět významné zvýšení pH roztoku sorbátem draselným. Toto zvýšení jsem se snažil vykompenzovat přidáním kyseliny citronové v počáteční koncentraci 0,05% (**PS4**). Koncentraci jsem postupně empiricky zvyšoval a vždy změřil pH roztoku až jsem dosáhl koncentrace 0,09%. Výsledky pH v závislosti na množství kyseliny citronové jsou uvedeny v následující tabulce.

Tab. 10: Vliv koncentrace kyseliny citronové na hodnoty pH roztoku PS4

Koncentrace	pH
0,05 %	4,53
0,06 %	4,38
0,07 %	4,27
0,08 %	4,16
0,09 %	4,05

Jako výslednou koncentraci kyseliny citronové jsem zvolil 0,08% zajišťující dostatečně kompenzované pH. Vzhledem k již nevýrazným rozdílům při vyšší koncentraci vyvstala otázka použití koncentrace 0,1% pro jednodušší navažování. Tuto možnost jsem však právě z tohoto důvodu nakonec zamítnul. V praxi by bylo možné použití méně přesných vah a skutečná koncentrace by mohla být ještě vyšší a docházelo by k větší zátěži vyšším množstvím pomocných látek.

Vodný roztok sotalolu má lehce nahořklou chuť. Jako chuťové korigens jsem použil prostý sirup. Vycházel jsem z receptury uvedené v NRF²⁶, kdy jsem pro jednoduchost přepočtené množství sirupu zaokrouhlil. Roztok (**PS5**) tedy obsahoval

předchozí složení SOT a sorbátu draselného, zvolenou koncentrací 0,8 % kyseliny citronové a prostý sirup. Výsledné pH roztoku bylo 4,46.

Chuťově je tento roztok velmi sladký a tak jsem, vzhledem k menší zátěži dětského organismu pomocnými látkami, snížil koncentraci prostého sirupu na polovinu (**PS6**). Roztok je dostatečně sladký a jeho pH bylo 4,45.

Různé koncentrace kyseliny citronové a její vliv na pH jsem ještě ověřil v předchozím složení společně s prostým sirupem (**PS7**). Výsledky pH po přidání kyseliny citronové jsou uvedeny v následující tabulce.

Tab. 11: Vliv koncentrace kyseliny citronové na Hodnoty pH roztoku PS7

Koncentrace	pH
0,07 %	4,49
0,08 %	4,41
0,09 %	4,31
0,10 %	4,22

Jako alternativu prostého sirupu, respektive sacharosy, jsem použil sodnou sůl sacharinu. Začal jsem s koncentrací 0,5% (**PS8**). Chuťově byl tento roztok nasládlý. Proto jsem zdvojnásobil koncentraci sodné soli sacharinu na 1,0% (**PS9**). Naměřil jsem pH tohoto roztoku 4,48. Chuťově byl tento roztok sladší, avšak stále si udržoval nahořklou chuť.

Poslední možnost, kterou jsem uvažoval, bylo použití pufru pro zachování stálého pH. Zpočátku jsem vycházel ze složení vehikul USP používaných v tekutých perorálních přípravcích.¹¹ Jako citráto-fosfátový pufr jsou zde použity dvě rozdílné navážky, lépe řečeno poměry kyseliny citronové a hydrogenfosforečnanu sodného. U prvního z nich (**PS10**) se po přidání sorbátu draselného zvýšilo pH z původní hodnoty 2,87 na 3,73. V druhém složení (**PS11**) se přidáním sorbátu draselného hodnota pH opět zvýšila z 3,02 na 4,02.

Z uvedených výsledků je patrná velmi nízká pufrovací schopnost obou těchto roztoků. Vzhledem k tomuto faktu jsem se rozhodl k použití McIlvane Standard

Buffer.¹³ V této preformulační studii jsem se snažil o nejnižší množné dávky pomocných látek a tak jsem připravený pufr (*PSI2*) naředil na polovinu a poté ještě jednou na polovinu pomocí vody na injekce. Navážky a výsledné pH jsou shrnuty v následující tabulce.

Tab. 12: Pufrovací schopnost citráto-fosfátového pufru dle McIlvane

	McIlvane	1/2	1/4
Kyselina citronová	1,231	0,616	0,308
Dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného	2,967	1,483	0,742
pH pufru	4,25	4,30	4,41
pH po přidání sorbátu draselného	4,36	4,52	4,73

Tento čtyřikrát naředěný pufr společně s prostým sirupem, respektive sodnou solí sacharinu, jsem připravil před závěrečnou přípravou pro stabilitní studii a změřil pH. Složení těchto roztoků, jejich pH a chuť je v tabulce 13.

Tab. 13: Závěrečné formulace SOT s pufrem

	<i>PSI3</i>	<i>PSI4</i>
SOT	0,5 g	0,5 g
Sorbát draselný	0,14 g	0,14 g
Kyselina citronová	0,30 g	0,30 g
Dodekahydrát hydrogenfosforečnanu draselného	0,74 g	0,74 g
Prostý sirup	20,0 g	-
Sodná sůl sacharinu	-	0,1 g
WFI ad	104,7 g	100,0 g
pH	4,74	4,69
Chuť	Sladká, lehce nakyslá	Sladká, lehce nahořklá

Tab. 14: Složení a vlastnosti vybraných preformulačních roztoků

	PS1	PS2	PS3	PS4	PS4b	PS4c	PS4d	PS4e	PS5	PS6	PS7	PS7b	PS7c	PS7d	PS7e	PS9	PS12	PS12b	PS12c
SOT	0,25	-	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	-	-	-
K	-	0,07	0,07	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
C	-	-	-	0,025	0,031	0,036	0,041	0,046	0,04	0,04	0,03	0,035	0,04	0,046	0,051	0,04	1,231	0,616	0,308
P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,967	1,483	0,742
D	-	-	-	-	-	-	-	-	20,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	-	-	-	-
S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-
WFI ad	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	54,75	52,37	52,3	52,3	52,3	52,3	52,3	50,0	50,0	50,0	50,0
pH	5,44	7,31	6,30	4,53	4,38	4,27	4,16	4,05	4,46	4,45	4,61	4,49	4,41	4,31	4,22	4,48	4,36	4,52	4,73

7.1.2 Zhodnocení výsledků měření hustoty a osmolality

Z použitých surovin výslednou hustotu roztoku nejvíce zvyšuje prostý sirup. Ostatní suroviny hustotu zvyšují jen nepatrně a jejich ovlivnění objemu je nepatrné. Podobná situace je i u osmolality. VZ7, který obsahuje citráto-fosfátový pufr, protimikrobní přísadu a sodnou sůl sacharinu, má stále nižší osmolalitu než fyziologický roztok (0,9% chloridu sodného). Použití prostého sirupu u VZ3, VZ5 a VZ6 osmolalitu výrazně zvyšuje na hypertonický roztok.

Tab. 15: Vlastnosti vzorků pro stabilitní studii a vehikul

	$\rho_8(\text{g/cm}^3)$		$\rho_{20}(\text{g/cm}^3)$		$\rho_{25}(\text{g/cm}^3)$		osmolalita (mOsmol/kg)
	průměr	s	průměr	s	průměr	s	
VZ1	1,0014	0	0,9997	0	0,9985	0	33
VZ2	1,0018	0	1,0001	0	0,9989	0	49
VZ3	1,0525	$5 \cdot 10^{-5}$	1,0500	0	1,0485	$4 \cdot 10^{-5}$	497
VZ4	1,0026	0	1,0008	$4 \cdot 10^{-5}$	0,9996	0	60
VZ5	1,0566	0	1,0538	$9 \cdot 10^{-5}$	1,0523	$9 \cdot 10^{-5}$	583
VZ6	1,0554	$9 \cdot 10^{-5}$	1,0529	0	1,0515	$18 \cdot 10^{-5}$	540
VZ7	1,0061	0	1,0043	0	1,0030	$4 \cdot 10^{-5}$	127
VZ8	1,0048	0	1,0030	0	1,0018	0	96
VZ9	1,3167	$28 \cdot 10^{-5}$	1,3112	$4 \cdot 10^{-5}$	1,3086	0	- *
VZ10	1,0498	$9 \cdot 10^{-5}$	1,0474	0	1,0460	0	432
VZ11	1,0038	0	1,0020	0	1,0008	0	69

* hodnota mimo rozsah přístroje

7.2 Stabilitní studie

Z preformulační studie jsem vybral celkem osm vzorků, které jsem následně zahrnul do stabilitní studie. Složení vybraných vzorků je uvedeno v tabulce 6. V rámci stabilitní studie jsem sledoval změny pH v celkovém čase 90 dnů. Z výsledků je patrné, že nedocházelo k výrazným změnám pH. Pouze u vodného roztoku sotalol

hydrochloridu došlo k navýšení pH z 5,2 na 5,7. Dle literárních zdrojů by měl být sotalol hydrochlorid chemicky stabilní v tomto časovém úseku, výsledky by bylo však dobré posoudit přesnou analytickou metodou typu HPLC. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách číslo 16-23 v pořadí po jednotlivých vzorcích. Písmena A a B označují šarži vzorku, označení **room** a **cold** vyjadřuje teplotu uchovávání při pokojové teplotě, respektive v chladničce.

Tab. 16: Výsledky měření pH vzorku č. 1 (SOT5)

Dny	A room	A cold	B room	B cold
0	5,34	5,20	5,19	5,31
1	5,33	5,34	5,35	5,50
3	5,11	5,34	5,38	5,40
7	5,19	5,36	5,44	5,48
14	5,54	5,45	5,52	5,51
30	5,60	5,52	5,61	5,57
60	5,69	5,54	5,69	5,66
90	5,72	5,60	5,74	5,68

Tab. 17: Výsledky měření pH vzorku č. 2 (SOT5 K0,14)

Dny	A room	A cold	B room	B cold
0	6,33	6,33	6,35	6,35
1	6,34	6,37	6,35	6,38
3	6,32	6,34	6,33	6,38
7	6,33	6,38	6,35	6,38
14	6,30	6,31	6,33	6,34
30	6,30	6,32	6,36	6,36
60	6,31	6,39	6,39	6,38
90	6,19	6,31	6,18	6,31

Tab. 18: Výsledky měření pH vzorku č. 3 (SOT5 C0,08 D20 K0,14)

Dny	A room	A cold	B room	B cold
0	4,41	4,42	4,42	4,42
1	4,44	4,43	4,43	4,42
3	4,43	4,42	4,43	4,42
7	4,42	4,42	4,41	4,42
14	4,42	4,40	4,42	4,41
30	4,46	4,40	4,43	4,40
60	4,44	4,42	4,43	4,42
90	4,45	4,38	4,42	4,39

Tab. 19: Výsledky měření pH vzorku č. 4 (SOT5 C0,08 S0,1 K0,14)

Dny	A room	A cold	B room	B cold
0	4,43	4,42	4,43	4,43
1	4,42	4,45	4,44	4,44
3	4,43	4,43	4,43	4,43
7	4,42	4,42	4,43	4,42
14	4,43	4,42	4,43	4,42
30	4,40	4,39	4,40	4,40
60	4,42	4,40	4,42	4,42
90	4,42	4,40	4,43	4,43

Tab. 20: Výsledky měření pH vzorku č. 5 (SOT5 CFP D20 K0,14)

Dny	A room	A cold	B room	B cold
0	4,70	4,70	4,74	4,72
1	4,71	4,70	4,74	4,74
3	4,70	4,70	4,74	4,73
7	4,70	4,69	4,73	4,72
14	4,71	4,70	4,74	4,71
30	4,67	4,68	4,73	4,73
60	4,72	4,72	4,73	4,75
90	4,70	4,70	4,75	4,73

Tab. 21: Výsledky měření pH vzorku č. 6 (CFP D20 K0,14)

Dny	A room	A cold	B room	B cold
0	4,75	4,74	4,74	4,74
1	4,76	4,76	4,75	4,74
3	4,76	4,74	4,73	4,73
7	4,74	4,73	4,73	4,73
14	4,75	4,69	4,74	4,73
30	4,75	4,74	4,73	4,74
60	4,76	4,75	4,74	4,76
90	4,76	4,74	4,75	4,75

Tab. 22: Výsledky měření pH vzorku č. 7 (SOT5 CFP S0,1 K0,14)

Dny	A room	A cold	B room	B cold
0	4,74	4,74	4,70	4,70
1	4,75	4,75	4,70	4,70
3	4,73	4,74	4,71	4,70
7	4,72	4,72	4,69	4,69
14	4,74	4,70	4,71	4,69
30	4,73	4,73	4,70	4,70
60	4,73	4,73	4,72	4,71
90	4,73	4,71	4,70	4,68

Tab. 23: Výsledky měření pH vzorku č. 8 (CFP S0,1 K0,14)

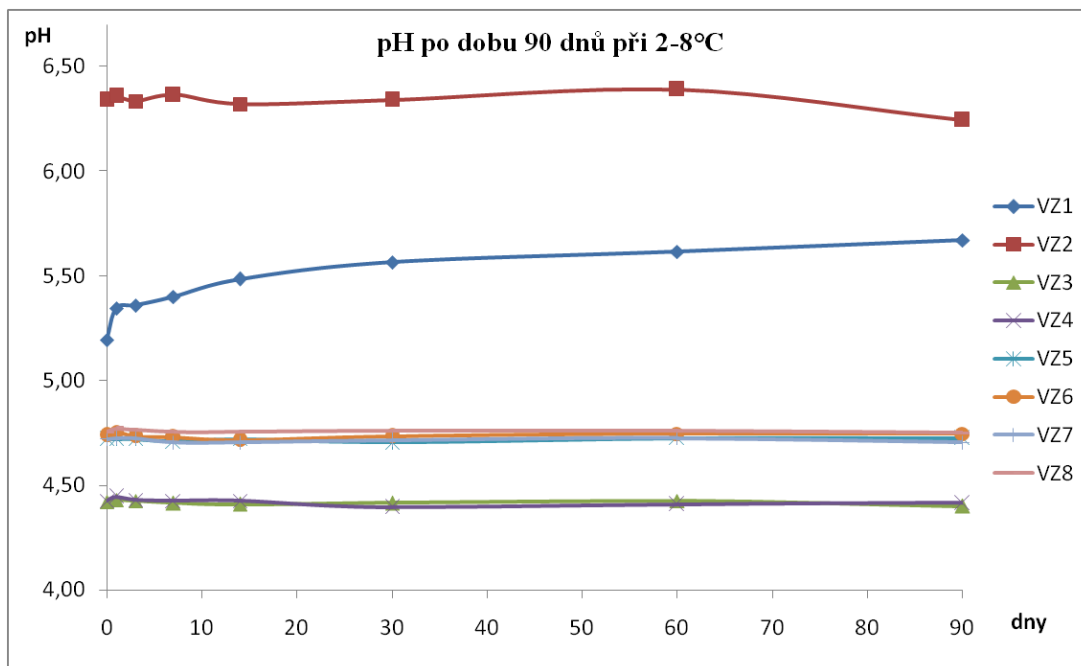
Dny	A room	A cold	B room	B cold
0	4,78	4,77	4,74	4,74
1	4,78	4,79	4,75	4,75
3	4,79	4,79	4,74	4,75
7	4,77	4,77	4,74	4,74
14	4,78	4,77	4,74	4,72
30	4,78	4,78	4,74	4,74
60	4,80	4,79	4,73	4,74
90	4,78	4,76	4,74	4,75

Z těchto výsledků se zdá jako nejvhodnější formulace VZ3. Tento vzorek vzhledem k absenci pufru je snadno připravitelný, udržoval si stabilní hodnotu pH při stabilitní studii a má příjemnou chuť. Splňuje také dříve stanovený požadavek na co nejnížší obsah pomocných látek.

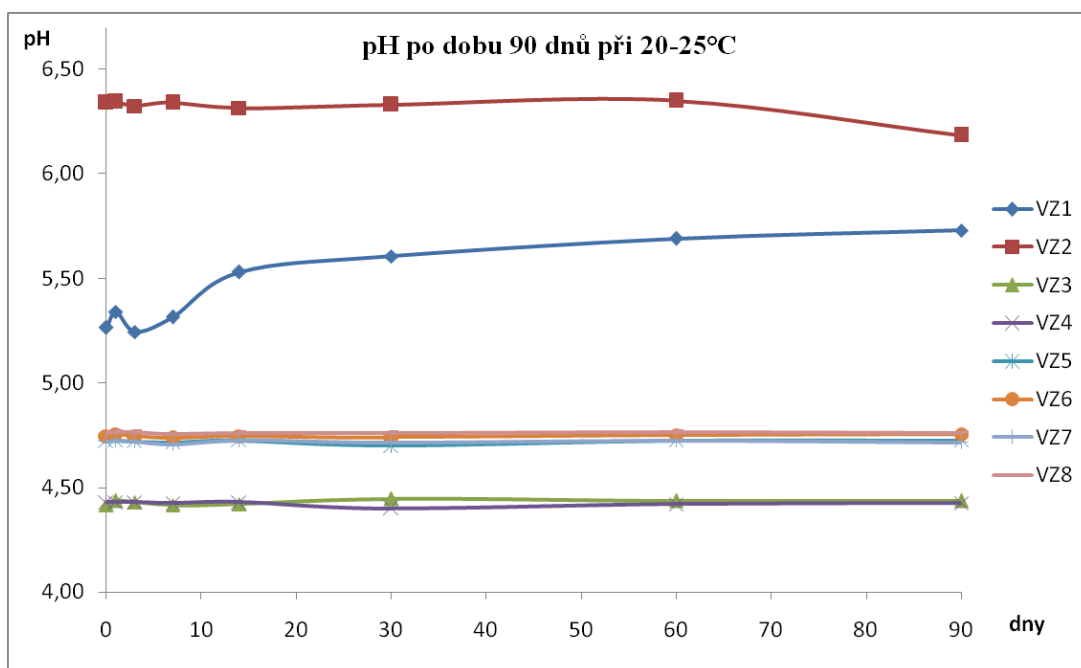
Koncentrace sorbatu draselného vycházela z receptury dle NRF. K testování na účinnost protimikrobní konzervační látky jsem vybral vzorek VZ3 se sníženou koncentrací na 0,1 g sorbatu draselného ve 100 ml. Tento vzorek vyhověl zkoušce

účinnosti protimikrobní konzervační látky provedené podle Ph.Eur. 7 (5.1.3) komerční firmou (atest v příloze).

Při přípravě vzorků pro stabilitní studii jsem vycházel z ovlivnění hustoty převážně prostým sirupem. Teoreticky předpokládaná hustota 20 g sirupu ve 100 ml vody (VZ10) se shoduje s naměřenou hustotou. Po přidání dalších látek se však výsledná hustota vzorku trochu odlišuje. Teoreticky spočítaná navážka v gramech při objemu 100 ml tedy přesně neodpovídá. Tato odchylka zásadně neovlivnila výsledky tohoto výzkumu, je však potřeba tuto skutečnost zohlednit při konečné formulaci roztoku sotalol hydrochloridu.



Obr. 1: Hodnoty pH vzorků při skladování v chladu



Obr. 2: Hodnoty pH vzorků při skladování při laboratorní teplotě

7.3 Stanovení obsahu

V českém lékopise je stanovení obsahu pomocí nevodné titrace kyselinou chloristou.⁹ Jelikož pracuji s vodnými roztoky, použil jsem alternativní možnost stanovení obsahu a to pomocí titrace na chloridy. Použité suroviny na přípravu vzorků chloridy neobsahují, tablety SotaHEXAL 80 mg by dle uváděného složení další pomocné látky s chloridy obsahovat neměly.²⁰ Jeden mol sotalolu je vždy vázán s jedním molem hydrochloridu. Argentometrickou titrací jsem stanovil obsah sotalolu u VZ3, SUS1 a SUS2. U suspenzí vzhledem ke snadné rozpustnosti sotalolu ve vodě jsem předpokládal, že se většina rozpustí a zůstane ve filtrátu. Výsledky stanovení obsahu jsou uvedeny v následující tabulce. Hmotnostní procenta značí výsledky z výpočtů potenciometrické titrace. Jelikož je pro nás důležitější hmotnostní koncentrace (c_w), jsou v tabulce také uvedeny přepočty na c_w . Ty jsem získal vždy zvážení 240 ml vzorku v odměrném válci. Výsledky potvrdily předpoklad, že se sotalol ve vodném roztoku rozpustí a zůstane ve filtrátu. Tato možnost přípravy z tablet může být použita při nedostupnosti suroviny sotalol hydrochloridu.

Tab. 24: Výsledky stanovení obsahu argentometrickou titrací na chloridy

	VZ3	SUS1	SUS2
% (w/w)	0,475	0,513	0,484
c_w (mg/ml)	4,96	5,00	5,02

7.4 Index lomu

Měření Abbého refraktometrem jsem provedl u vzorků VZ3, SUS1 a SUS2. Výsledky indexu lomu společně s pH jsou uvedeny v následující tabulce. Hodnoty indexu lomu jsou užitečné jako jeden ze způsobů kontroly přípravy v nemocniční lékárně.

Tab. 25: Výsledky měření indexu lomu a pH

	VZ3	SUS1	SUS2
n	1,3525	1,334	1,353
pH	4,48	6,46	4,48

8 Závěry

Z výsledků této diplomové práce vyplynuly následující závěry:

- 1) V preformulační studii byla vybrána voda na injekci jako vhodné vehikulum. Jako pomocné látky jsou vhodné kyselina citronová a dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného pro úpravu pH, sorbát draselný pro zajištění mikrobiální stability, prostý sirup nebo sodná sůl sacharinu pro modulaci chuti.
- 2) Bylo vybráno 8 vzorků pro sledování stability pH při teplotách 2-8 °C a 20-25 °C po dobu 90 dnů. Při obou teplotách:
 - měly roztoky sotalol hydrochloridu s přísadou kyseliny citronové stabilní hodnoty pH v rozmezí $4,4 \pm 0,05$;
 - měly roztoky sotalol hydrochloridu s přísadou citráto-fosfátového pufru stabilní hodnoty pH v rozmezí $4,7 \pm 0,1$;
 - měl vodný roztok sotalol hydrochloridu se sorbátem draselným pH v rozmezí $6,3 \pm 0,2$;
 - u vodného roztoku sotalolu došlo k navýšení pH z 5,2 na 5,7.
- 3) Pro zajištění stability pH postačuje přídavek kyseliny citronové, použití citráto-fosfátového pufru není nutné. Tento závěr bude ověřen ve validované stabilitní studii pomocí HPLC.
- 4) Hustota navržených formulací byla v rozmezí $0,9997 - 1,0538 \text{ g/cm}^3$; osmolalita rozmezí 33 - 583 mOsmol/kg.
- 5) Byla zvolena protimikrobní látka sorbát draselný v koncentraci 0,14 %.
- 6) Jako vhodný obal byla zvolena lékovka se speciální plastovou vložkou, která umožňuje odběr přípravku perorální stříkačkou.
- 7) Pro rutinní kontrolu v nemocniční lékárně byla ověřena potenciometrická titrace na chloridy pro stanovení obsahu sotalol hydrochloridu. U přípravků obsahujících sirup je vhodná také kontrola indexu lomu pomocí refraktometrie.
- 8) Jako vhodné formulace pro stabilitní studii se stanovením obsahu sotalol hydrochloridu a sorbátu draselného metodou HPLC byly vybrány vzorky VZ1, VZ3 a VZ4.

9 Přílohy



plus s.r.o. laboratory diagnostics, biological tests



kancelář – Kladská 1032,
500 03 Hradec Králové 3
tel/fax: 495 217 372
radiomobil: 603 822 081

kontrolní
laboratoř – Kladská 1032,
500 03 Hradec Králové 3
tel/fax: 495 217 372
radiomobil: 603 822 081

**FN Motol - nemocniční
lékárna
nemocniční lékárna
V Úvalu 84
PRAHA 5
150 06**

věc: účinnost protimikrobní konzervační látky

A T E S T

o zkoušce účinnosti protimikrobní konzervační látky podle Ph.Eur.7

Validovaný přípravek: datum zahájení zkoušení: 24.10.2012

č. testu	název přípravku (vzorku), forma	č.vzorku	balení	č.šarže
BVP12-0159	Roztok sotalolu VZ3(SOT5C0,08D20K0,1)	-	6x20ml	241012B

Způsob provedení: Ph.Eur.7, čl. 5.1.3., SOP-K.7.01

Do zkoušeného léčivého přípravku naočkováno 6 druhů mikroorganismů, uchování naočkovaného přípravku při předepsané teplotě, odebrání vzorků v určených časových intervalech a stanovení počtu živých zárodků ve vzorcích metodou počítání na pevných půdách.

Hodnocení:

Očkovaný druh mikroorganismu	aplikovaná dávka cfu / 1 ml	nález počtu kolonií v 1 ml přípravku	
	0. den	14. den	28. den
Datum	24.10.2012	07.11.2012	21.11.2012
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 4516	$2,0 \times 10^6$	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 1961	$1,0 \times 10^6$	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
<i>Escherichia coli</i> CCM 4517	$1,6 \times 10^6$	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
<i>Candida albicans</i> CCM 8215	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$	$<1,0 \times 10^3$
<i>Aspergillus brasiliensis</i> CCM 8222	$1,1 \times 10^6$	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> CCM 8224	$1,4 \times 10^6$	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$

nález / limit	logaritmické snížení počtu zárodků			
	14. den		28. den	
	nález	limit	nález	limit
Bakterie	3	3	BZP	BZP*
Houby	1	1	BZP	BZP*

* BZP = bez zvýšení počtu vůči předchozí hodnotě

Závěr: Vzorek přípravku **vyhovuje** zkoušce účinnosti protimikrobní konzervace provedené podle Ph.Eur.7.

Datum vystavení: 26.11.2012



Vystavil:

Mgr. M. Vávrová

SOP- K.7.01/5/3

Příloha 1: Výsledky účinnosti protimikrobní konzervační látky (5.1.3)

10 Použitá literatura

1. Zákon č. 378/2007 Sb. o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů.
2. Vyhláška č. 84/2008 Sb. o správné lékařské praxi, bližších podmínkách zacházení s léčivý v lékárnách, zdravotnických zařízeních a u dalších provozovatelů a zařízení vydávajících léčivé přípravky.
3. WOODS, DJ: *Extemporaneous formulations of Oral Liquids a guide*. (citováno dne: 11.4.2013) <http://www.pharminfotech.co.nz/manual/Formulation/extemprep.pdf>
4. LEBL, J, PROVAZNÍK, K, HEJCMANOVÁ, L, et al.: *Preklinická pediatrie*. 2. přeprac. vyd. 2007, Galén, Praha, 248 s., ISBN 978-80-7262-438-6
5. HALLS, SB: *Formulas for Calculating Body Surface Area* (online), poslední revize 24.5.2008, (citováno dne: 11.4.2013). <http://www.halls.md/body-surface-area/refs.htm>
6. KLOVRZOVÁ, S: Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě – I. část. *Prakt. lékařn.*, 2011; 7(6), s. 276-278. (citováno dne: 5.5.2013). <http://solen.cz/pdfs/lek/2011/06/08.pdf>
7. Reflection Paper: Formulations of choice for the pediatric population, EMEA/CHMP/PEG/194810/2005, EMEA 2006, (citováno dne: 5.5.2013). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003782.pdf
8. KLOVRZOVÁ, S, ŠKLUBALOVÁ, Z: Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě II. – perorální roztoky a suspenze. *Prakt. lékařn.*, 2012; 8(2), s. 80-84. (citováno dne: 5.5.2013) <http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2012/02/07.pdf>
9. MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR: *Český lékopis 2009. Doplněk 2012*, Grada Publishing, Praha, CD-ROM.
10. ALLEN, LV JR: *Secundum Artem 15-3* (online), k 7.5.2013. <http://www.perrigo.com/business/pdfs/Sec%20Artem%2015.3.pdf>

-
11. United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopeia. U.S. Pharmacopeia Convention 2009. ISBN 978-188-9788-852.
 12. Denyer, SP, Baird, RM: Guide to microbiological control in pharmaceuticals. 1990, Ellis Horwood, New York, 389 s., ISBN: 01-337-2822-6. Denyer, SP, Wallhaeusser, K-H: Antimicrobial preservatives and their properties. s. 251-273.
 13. SCHUMACHER, GE: Bulk compounding technology. *Am J Hosp Pharm*, 1966; 23:628-9.
 14. VLČEK, J, FIALOVÁ, D: *Klinická farmacie I*. 2010, Grada Publishing, Praha, 368 s., ISBN 978-80-247-3169-8.
 15. LÜLLMANN, H, MOHR, K, WEHLING, M: *Farmakologie a toxikologie*. 2004, Grada Publishing, Praha, 728 s., ISBN 80-247-0836-1
 16. HEINC, P: Současný pohled na antiarytmika. *Klin Farmakol Farm*, 2009; 23(2), s. 64-70, (citováno dne: 7.5.2013)
<http://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2009/02/05.pdf>
 17. SUCHOPÁR, J: *Remedia compendium*. 4. vyd. 2009, Panax, Praha, 946 s., ISBN 978-80-902806-4-9
 18. TAKETOMO, CK, HODDING, JH, KRAUS, DM: Lexi-comp's pediatric dosage handbook. 11. vyd. 2004, Lexi-Comp, Hudson, OH, 1557 s., ISBN 1-59195-092-9
 19. CHALUPECKÝ, V: *Dětská kardiologie*. 2006, Galén, Praha, 444 s., ISBN 80-7262-406-5
 20. STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV: *Databáze léků* (online), k 7.5.2013. <http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>
 21. TRISSEL, LA: *Trissel's stability of compounded formulations*. 4. vyd. 2009, American Pharmacists Association, Washington, DC, 654 s., ISBN 978-1-58212-125-3
 22. DUPUIS, LL, JAMES, G, BACOLA, G: Stability of a sotalol hydrochloride oral liquid formulation. *Can J Hosp. Pharm*, 1988;41:121-3.
 23. NAHATA, MC, MOROSCO, RS: Stability of a sotalol in two liquid formulations at two temperatures. *Ann Pharmacother*, 2003;37:506-509.

-
24. SIDHOM, MB, RIVERA, N, ALMOAZEN, H, et al.: Stability of sotalol hydrochloride in extemporaneously prepared oral suspension formulations. *Int J Pharm Compound*, 2005; 9:402-6.
25. NAHATA, MC, PAI, VB: *Pediatric drug formulations*. 6.vyd. 2011, Harvey Whitney Books, Cincinnati, OH, 385 s., ISBN 978-092-9375-328.
26. Deutscher Arzneimittel-Codex (DAC)/Neues Rezeptur-Formularium (NRF). 2009, Govi-Verlag Eschborn, Deutscher Apotheker-Verlag Stuttgart 2009